

대한민국 특허청  
KOREAN INTELLECTUAL  
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto  
is a true copy from the records of the Korean Intellectual  
Property Office.

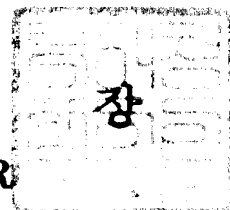
출원번호 : 특허출원 2001년 제 10233 호  
Application Number PATENT-2001-0010233

출원년월일 : 2001년 02월 28일  
Date of Application FEB 28, 2001

출원인 : 삼조셀텍 주식회사  
Applicant(s) SAMJOCELLTECH LTD.

2002 년 02 월 15 일

특 허 청  
COMMISSIONER



## 【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2001.02.28
【발명의 명칭】	콩배아를 이용한 코오지 및 장류의 제조방법, 및 이들 방법에 의해 제조된 콩배아 코오지 및 이소플라본이 다량 함유된 장류
【발명의 영문명칭】	PROCESSES FOR PREPARING KOJI AND JANG(SOYBEAN SAUCE) USING SOYBEAN EMBRYO, AND KOJI AND JANG(SOYBEAN SAUCE) HAVING HIGH ISOFLAVONE CONTENT PREPARED THEREBY
【출원인】	
【명칭】	삼조셀텍 주식회사
【출원인코드】	1-2000-038545-8
【대리인】	
【성명】	이현실
【대리인코드】	9-1999-000366-5
【포괄위임등록번호】	2000-046773-0
【대리인】	
【성명】	장성구
【대리인코드】	9-1998-000514-8
【포괄위임등록번호】	2000-046771-5
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김태현
【성명의 영문표기】	KIM, Tae Hyun
【주민등록번호】	720303-1702821
【우편번호】	330-836
【주소】	충청남도 천안시 성거읍 저리 53-2 삼일원앙아파트 101-707
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	박명규
【성명의 영문표기】	PARK, Myoung Gyu
【주민등록번호】	601102-1260415

【우편번호】	330-810
【주소】	충청남도 천안시 직산면 수혈리 부영아파트 104-203
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김은주
【성명의 영문표기】	KIM, Eun Ju
【주민등록번호】	720612-2038026
【우편번호】	330-820
【주소】	충청남도 천안시 입장면 도림리 341-1 한성아파트 110-502
【국적】	KR
【심사청구】	청구
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조 의 규정에 의한 출원심사 를 청구합니다. 대리인 이현실 (인) 대리인 장성구 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	20 면 29,000 원
【가산출원료】	16 면 16,000 원
【우선권주장료】	0 건 0 원
【심사청구료】	20 항 749,000 원
【합계】	794,000 원
【감면사유】	중소기업
【감면후 수수료】	397,000 원
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통

## 【요약서】

## 【요약】

본 발명은 콩배아를 이용한 코오지(koji, 麹) 및 장류의 제조방법, 및 이들 방법에 의해 제조된, 콩배아 코오지 및 이소플라본이 다량 함유된 장류에 관한 것으로, 본 발명의 콩배아를 이용한 코오지 및 장류는 이소플라본 및 흡수가 용이한 어글리콘 형태의 이소플라본이 다량 함유되어 있어 기능성 면에서 우수할 뿐만 아니라 아밀라아제 및 프로테아제의 활성이 높아 단맛 및 구수한 맛이 매우 우수하여 된장 및 고추장을 비롯한 장류에 유용하게 사용될 수 있다.

## 【명세서】

## 【발명의 명칭】

콩배아를 이용한 코오지 및 장류의 제조방법, 및 이들 방법에 의해 제조된 콩배아 코오지 및 이소플라본이 다량 함유된 장류{PROCESSES FOR PREPARING KOJI AND JANG(SOYBEAN SAUCE) USING SOYBEAN EMBRYO, AND KOJI AND JANG(SOYBEAN SAUCE) HAVING HIGH ISOFLAVONE CONTENT PREPARED THEREBY}

## 【발명의 상세한 설명】

## 【발명의 목적】

## 【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<1> 본 발명은 콩배아를 이용한 코오지(koji, 麴) 및 장류의 제조방법, 및 이들 방법에 의해 제조된, 콩배아 코오지 및 이소플라본이 다량 함유된 장류에 관한 것이다.

<2> 장류는 우리 조상들이 오랜 옛날부터 애용하여온 전통 발효식품으로 국내 뿐 아니라 일본, 중국 등지에서도 유사한 식품의 형태로 폭넓게 섭취되고 있으며 국내에서 소비되고 있는 장류를 품종별로 나누어 보면 간장, 된장 그리고 고추장으로 구분 할 수 있다. 고추장은 간장이나 된장처럼 단순히 간을 맞추어 맛을 내는 것이 아니고 자극적이며 향신료와 같은 역할까지 결들이므로 맛을 가해주는 우리나라 고유의 발효 식품이라 할 수 있다. 장류 중의 하나인 된장을 예로 들면, KS(Korean Standard) 규격에 따른 개량식 된장의 원료는 식염 12%, 콩 25%, 보리 25%, 보리국자 37%와 종수로 구성되어 있으며, 세균과 곰팡이가 분비하는

다양한 효소에 의해 구성성분들이 분해되는데, 특히 된장 성분의 25% 정도를 차지하는 단백질은 프로테아제에 의해 여러 가지 펩타이드나 아미노산으로 분해된다. 종래의 된장은 재래식 된장과 개량식 된장으로 구분할 수 있는데, 재래식 된장은 간장을 뜨고 남은 메주와 찌보리 자체에 함유되어 있는 효소에 의하여 자연숙성으로 발효시켜 제조되는 것으로 숙성에 장시일이 요구되며, 간장을 뜨고 나머지로 된장을 만들기 때문에 품질이 낮고 영양분이 적고 맛이 좋지 않다는 단점이 있다. 일반적으로 개량식 된장은 코오지를 만든 다음, 여기에 증자시킨 콩과 소금물을 가하여 초퍼공정을 거쳐 분해된 것을 숙성(aging)시킴으로써 제조된다. 그러나 이 방법에서는 중국으로 코오지를 만드는 제국의 과정이 필연적이므로 일반 가정에서 사용하기에 어려움이 따르고 경비가 많이 든다는 단점이 있다.

<3> 일반적으로 발효된 된장 중에는 글루탐산(glutamic acid)이나 류신(leucine) 등이 유리 아미노산으로서 다량 함유되어 있고, 펩타이드들을 구성하고 있는 아미노산으로서는 글루탐산(glutamic acid), 프롤린(proline), 아스파르트산(aspartic acid)의 비율이 높은 것으로 알려져 있다. 이와 같이 된장은 유리 아미노산, 불포화 지방산 등의 함량이 높아 영양이 풍부할 뿐만 아니라 항암, 항혈전, 항고혈압, 골다공증 예방 효능 등이 있는 것으로 알려져 왔다.

<4> 된장 제조방법으로서는 콩 이외의 다른 성분을 첨가하는 방법(특허공개 제 2000-0041532 호(개량 영지, 호박 된장 제조방법); 특허공개 제 2000-0041531 호(호도, 땅콩, 밤 된장 제조방법); 특허공개 제 2000-0026798 호(갯 된장 제조방법));

특허공개 제 2000-0012710 호(호박씨 된장 제조방법); 및 특허공개 제 1999-0079149 호(구기자 된장의 제조방법))과 다른 식품의 미생물을 이용하는 방법(특허공개 제 2000-0049510 호(바실러스 나토와 약초를 이용한 기능성 된장, 청국장 조성물 및 제조방법); 특허공고 제 1989-0003997 호(젓갈을 이용한 된장의 제조방법); 및 대한민국 특허 제 0133989 호(버섯균주를 이용한 장류 및 그 제조방법)), 기능성 물질이 첨가된 된장제조 방법(특허공개 제 2000-0024798 호(표고버섯 성분이 함유된 된장 및 간장의 제조방법); 특허공개 제 1999-009389 호(키토산과 미네랄이 첨가된 건강 된장); 대한민국 특허 제 0136712 호(가용성 저분자 키토산 함유 된장의 제조방법); 특허공고 제 1992-0002100 호(분말 젓갈이 가미된 된장의 제조방법); 특허공고 제 1991-0006926 호(액체육젓을 가미한 된장의 제조 방법); 및 특허공개 제 1999-0078976 호(벌꿀 간장과 된장의 제조방법)) 등이 있다.

<5> 한편, 고추장의 제조방법을 살펴보면 다른 성분을 첨가하여 제조하는 방법(특허공개 제 2000-0012711 호(호박씨 고추장 제조방법); 특허공개 제 2000-0000066 호(양파를 첨가한 고추장 제조 및 방법); 특허공개 제 2000-0075200 호(구기자를 이용한 고추장 및 그 제조 방법); 특허공개 제 2000-0034703 호(마를 함유한 고추장의 제조방법); 특허공개 제 2000-0024796 호(표고버섯 성분이 함유된 고추장의 제조방법); 특허공개 제 1998-087851 호(고구마 고추장); 특허공개 제 1998-0087760 호(연시고추장 및 그 제조방법); 특허공개 제 1999-009388 호(키토산과 미네랄이 첨가된 건강 고추장); 및 특허공개 제 1998-0016234 호(호박 및 꿀을 혼합한 고추장 제조방법)), 다른 식품의 미생

물 또는 효소를 이용하는 방법(특허공개 제 1998-082290 호(홍국균을 이용한 고추장의 제조방법); 특허공개 제 1988-0009581 호(젓갈을 이용한 숙성고추장의 제조방법); 및 특허공개 제 1999-0071271 호(올리고당 고추장의 제조방법)) 등이 있다. 즉, 이와 같이 종래의 된장 및 고추장 제조방법에서는 콩을 기본 원료로 사용하여 다른 성분들을 추가하여 맛과 기능성을 강화한 것이 보편적이었다.

<6> 장류 제조에서 가장 중요한 것은 품질이 우수한 코오지를 제조하는 것인데, 품질이 좋은 코오지를 생산하기 위해서는 목적으로 하는 효소를 빠르고 많이 생산하는 균주를 선별하여 장류에 사용되는 재료들로부터 맛 성분을 잘 만들어 내어야 한다. 장류에서 중요한 맛으로 여겨지는 것은 구수한 맛과 단맛으로서, 구수한 맛은 단백질이 단백질 분해효소인 프로테아제(protease)에 의해 아미노산으로 분해됨으로써 나타나고, 단맛은 아밀라아제(amylase)에 의해 전분질이 당으로 분해됨으로써 나타난다. 그러므로 코오지 제조에 사용되는 미생물은 단백질과 전분질을 분해할 수 있는 효소를 잘 생산할 수 있어야 하며, 숙성에 큰 어려움이 없어야 한다.

<7> 코오지는 식품원료를 분해하여 정미물질로 변화시키는 효소들의 집합체로서, 균체를 번식시켜 효소류(주로 아밀라아제, 프로테아제)를 생산 및 축적시키는 역할을 한다. 또한 이는 장류 양조의 담금 원료인 전분질과 단백질의 각종 성분을 분해하는 효소를 공급하는 것으로, 젖산균과 효모의 증식 및 발효를 촉진하는 영양소를 제공한다. 코오지균이 만드는 효소에 대해서는 수없이 많이 알려져 있지만 양조의 이용면에서는 주로 프로테아제 및 아밀라아제가 중요하며, 코오지는 이 두 가수분해효소의 공급원이라고 말할 수 있다. 그러나 코오지균의 작용



은 아주 복잡하며 코오지균이 생산하는 비타민류나 대사산물은 기타의 발효 미생물에 대하여 직접 또는 간접적으로 복잡하게 작용한다. 코오지에 사용되는 재료들로는 전분 함유 곡류인 백미, 보리, 밀, 밀가루, 쌀보리, 밀쌀, 밀기울, 정맥, 압맥, 소맥, 나맥, 과쇄미, 찹쌀 등과 단백질이 풍부한 콩과식물, 탈지 콩, 탈지 콩가루 등이 있는데, 이들 재료들은 정미성분인 당화 물질 또는 아미노산을 생산할 수 있는 원료로서 적합하다.

<8>        우수한 코오지를 만들기 위해서는, 잡균 오염을 최소한으로 억제할 수 있는 적온에서 방랭한 후 종국을 접종해야 하며, 수분이나 온도 등의 차이와 불균형이 없어야 하고, 종국의 접종량을 적절히 하고 접종되지 않는 부분이 없도록 해야 한다. 또한, 품질이 우수한 코오지의 조건으로는, 장류에 알맞은 효소 역가를 가져야 하며, 코오지균 이외의 잡균에 오염되어 있지 않아야 하고, 코오지균의 침투 번식 주변이 불량하지 않고 코오지균 균사번식 침투상태가 깊고 착색이 적고 밝은 느낌이 있어야 하며, 코오지 고유의 향기가 있고, 이취가 없어야 한다. 또한, 코오지 제조를 위한 종균이 갖고 있어야 할 특성으로는 종국의 단위량에 비해 코오지균의 포자수가 많아야 하며, 포자의 내구성이 강하고, 발아율이 높으며, 혼입 오염균의 양이 적고, 제품이 잘 건조되어 있어야 한다. 또한 우수한 종국의 조건은 안전성이 보증되며, 증식력이 왕성하고, 효소 역가가 사용목적에 적당하며, 제국할 때 탄수화물 소비가 적고, 향미가 좋으며, 잡균이 없어야 한다.

<9>        코오지 제조에 사용되는 균은 곰팡이와 세균으로 구분되며, 곰팡이로는 아스퍼질러스 아와모리(

*Aspergillus awamori*), 아스페질러스 카와치(*Asp. kawachii*), 아스페질러스 니거(*A. niger*), 아스페질러스 오리자에(*A. oryzae*), 아스페질러스 시로우사미(), 아스페질러스 소자에(*A. sojae*), 아스페질러스 타마리(), 리조푸스 델레마(*Rhizopus delemar*), 리조푸스 올리고스포르스() 등이 있고, 세균으로는 바실러스 브레비스(), 바실러스 리첸니포르미스(*B. licheniformis*), 바실러스 나토(), 바실러스 폴리믹사(*B. polymixa*), 바실러스 푸밀리스(*B. pumilis*), 바실러스 서브틸리스(*B. subtilis*) 등이 있다. 장류의 향미에 관여하는 균으로는 효모와 젖산균이 있으며, 내염성 효모로 장류 숙성에 관여하는 균은 사카로마이세스 록시(*Saccharomyces rouxii*), 톨룰롭시스 다틸라(*Torulopsis dattila*), 톨룰롭시스 엑벨시(*Torulopsis etcbellsii*), 톨룰롭시스 베르사틸리스(), 자이고사카로마이세스 록시(*Zygosaccharomyces rouxii*) 등이 있고, 내염성 젖산균으로 된 장숙성에 관여하는 균은 페디오코커스 할필러스(), 페디오코커스 소자에(*Pediococcus sojae*), 테트라코커스 소자에(*Tetracoccus sojae*) 등이 있다.

<10> 일반적으로 코오지의 제조방법은 다음과 같다. 먼저 목적 코오지의 원료물질과 종균(starter)을 선택하고, 종균은 전처리 된 원료 물질에서 생장이 원활하게 되도록 활성화 과정을 거쳐 제조한다. 원료물질은 전처리(선별, 세척, 침지, 증자 등) 공정을 통해 종균이 생장을 잘하여 원하는 효소를 많이 생산해 낼 수 있는 여건을 제공한다. 전처리 된 원료물질에 활성화된 종균 적정량을 접종하여 골고루 섞은 후 원하는 효소를 가장 잘 생산해내는 온도와 습도를 유지하면서 코

오지를 숙성시킨다. 코오지 제조 과정에서 코오지균의 생육이나 효소의 생산, 그리고 혼합 미생물의 증식에 영향을 주는 인자로는 수분, 온도, 코오지 제조 시간, 통기성 등이 있다. 예를 들어, 된장제조에 사용하는 코오지는 크게 두가지 방법, 즉, 재래식과 개량식 방법으로 제조할 수 있는데, 재래식 코오지는 콩으로 만든 메주에서 간장을 뜨고 남은 것이다. 즉, 메주를 만드는 공정으로 먼저 콩을 선별, 세척, 침지, 증자 등의 공정을 거친 후 잘 빻아서 적절한 크기의 덩어리로 만든 후 새끼줄에 묶어 별이 잘 들고 통기가 잘되는 처마 밑에 매달아 놓아 공기 중에 부양하는 각종 곰팡이와 세균들이 착생할 수 있게 하여 3~4개월 간 매달아 놓는다. 이것이 재래식 된장의 코오지로서 여기에서 간장을 뜨고 남은 메주가 실질적인 코오지에 해당한다.

<11> 반면 개량식 방법에서는 전분을 100℃에서 30 내지 40분 동안 쪄서 호화하여  $\alpha$ 화시킨 다음, 쪄진 전분질 원료를 35℃ 내외로 냉각시켜 재우기를 한 후, 황국균(*Aspergillus*)으로 된 종국(種麴)을 첨가하고 뒤치기, 담기, 헤치기, 바꿔 쌓기, 출국(出麴)을 수행하여 코오지를 제조할 수 있다.

<12> 한편, 이소플라본(isoflavone)은 콩과식물, 칩 등에 존재하는 천연 화합물로서 콩에는 0.3% 정도 함유한 반면 콩배아에는 2.5 내지 3 %로 다량 함유되어 있다. 이러한 기능성 미소 성분인 이소플라본은 여성 호르몬의 일종인 에스트로겐과 유사한 구조를 가지며, 피토에스트로겐(phytoestrogen)과 같은 생리적 기능이 있으며,  $C_{15}H_{10}O_2$ 의 분자식을 갖고 제니스케인(genistein), 다이드제인(daidzein), 글리시테

인(glycitein) 및 이의 글루코스 배당체, 나아가서는 아세틸화체, 마로닐화체(malonyl) 등 총 12 종류가 천연 상태로 존재하는 이성체로 알려져 있으며 주로 배당체의 형태로 존재한다. 이전에 이들은 단순히 색소로만 여겨져 왔으나 최근의 연구들을 통해서 항암효과(Barnes, *J. Nutr.*, 125, 777s, (1995); Akiyama et al., *J. Biol. Chem.*, 262(2), 5592(1987); 및 Molteni et al., *J. Nutr.*, 125, 751s (1995), 골다공증 예방(Shino et al., *Life Sci.*, 42(11), 1123 (1988)), 만성질환 예방(Fotsis et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 90, 2690(1993)), 항산화 효과(Naim et al., *J. Agric. Food Chem.*, 24(6), 1174(1976)), 알데히드 탈수소효소 억제 작용(Keung and Vallee, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 90, 1247(1993), 전립선 암의 예방(Peterson and Barnes, *The Prostate*, 22, 335(1993)) 등의 효과가 있음이 계속 밝혀지고 있다.

<13> 자연 상태에서 이소플라본의 대부분은 배당체의 형태로 존재하는데, 이소플라본 배당체는 위산에 의해 분해되지 않아 체내에서 그대로 흡수되지 않고 대장 내에 존재하는 미생물로부터 분비되는 효소(베타-글루코시다아제)에 의해서만 흡수되어 흡수율이 낮다는 단점이 있다(미국 특허 제 5,506,211 호). 반면 어글리콘 형태의 이소플라본은 체내에서 부가적인 변화 없이 위와 소장에서 직접 흡수가 되는 특성을 가지고 있다.

<14> 이에 본 발명자들은 이소플라본 및 어글리콘 형태의 이소플라본이 다량 함유되어 있는 코오지 및 장류를 제조하기 위해 계속 연구를 진행하던 중, 장류 제조시 두유 및 대두유 제조과정에서 부산물로 나오는 콩배아를 식품원료로서 활용함으로

써 경제적인 뿐만 아니라 이소플라본 및 어글리콘 형태의 이소플라본의 함량이 높아져 기능성 면에서도 우수한 코오지 및 장류를 생산할 수 있게 되어 본 발명을 완성하였다.

**【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】**

<15> 따라서, 본 발명의 목적은 콩배아를 함유하는 코오지 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

<16> 본 발명의 다른 목적은 이소플라본 및 어글리콘 형태의 이소플라본이 다량 함유된 장류 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

**【발명의 구성 및 작용】**

<17> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에서는 코오지를 제조하는 방법에 있어서, 콩배아를 주원료로 사용하는 것을 특징으로 하는 방법 및 상기한 코오지의 제조방법에 의해 제조된, 콩배아를 5 내지 100 중량% 함유하는 콩배아 코오지를 제공한다.

<18> 상기 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에서는 장류를 제조하는 방법에 있어서, 콩배아를 주원료로 사용하는 것을 특징으로 하는 방법 및 상기한 장류의 제조방법에 의해 제조된, 이소플라본 및 어글리콘 형태의 이소플라본이 0.1 내지 3 중량% 함유된 장류를 제공한다.

<19> 본 발명에서 사용하는 콩배아는 기존의 콩과 비교하여 다음과 같은 장점을 갖는다: 첫째, 두유 제조나 콩기름 제조 공정에서 부산물로 얻어지는 원료를 사용함으로 경제적이며, 둘째, 조성면에서 볼 때 콩의 대체소재로서 충분히 사용가능하며, 셋째, 사포닌(saponin), 비타민(vitamin), 플라보노이드(flavonoids), 폴리페놀류(poly-phenol), 이소플라본(isoflavone) 등의 기능성 생리활성 물질들을 콩에 비하여 월등하거나 상등하게 함유하고 있어 기능성 면에서도 우수한 신규 식품원료이라는 점이다. 구체적으로, 콩과 콩배아의 조성(무수물 기준)을 비교해 보면, 콩은 조단백질 42.6%, 조지방 21.4%, 가용성 무질소물 26.2%, 조섬유 4.7% 및 회분 5.0%로 구성되어 있는 반면, 콩배아는 조단백질 43.4% 조지방 11.5%, 가용성 무질소물 38.1%, 조섬유 2.8% 및 회분 4.3%로 구성되어 있다(정동효 외, 대두발효식품, 지성의 샘, 34-38(1994)).

<20> 본 발명에서는 장류의 구수한 맛과 단맛에 관여하는 효소인 프로테아제와 아밀라아제 생산 능력이 우수한 것으로 알려진 고초균(*Bacillus sp.*)과 황국균(*Aspergillus sp.*)을 코오지에 대하여 0.01 내지 10 중량%로 사용하여 콩배아 코오지를 제조한다.

<21> 콩배아 코오지는 다음과 같이 제조할 수 있다. 즉, 콩배아를 선별하여 5 내지 30 시간, 바람직하게는 10 내지 20 시간 동안 침지시킨다. 침지된 콩배아를 증자기에 넣어 90 내지 140℃, 바람직하게는 110 내지 120℃에서 증자시킨다. 증자된 콩배아를 식힌 후 고초균, 황국균 또는 이들의 혼합물을 0.01 내지 10 중량%, 바람직하게는 0.1 내지 5중량%의 양으로 접종한다. 이 때 사용되는 고초균으로는 바실러스 브레비스(*B. brevis*), 바실러스 리제니포미스(*B.*

licheniformis), 바실러스 나토(*B. natto*), 바실러스 폴리믹사(*B. polymixa*), 바실러스 푸밀리스(*B. pumilis*), 바실러스 서브틸리스(*B. subtilis*) 등이 있다.

~~또한 사용~~가능한 황국균(*Aspergillus* sp.)은 지역이나 용도에 따라 다소 차이가 있을 수 있으나, 장류의 제조에 통상적으로 사용되는 균은 모두 사용될 수 있다. 예를 들어, 아스퍼질러스 아와모리(*A. awamori*), 아스퍼질러스 카와치(), 아스퍼질러스 니거(*A. niger*), 아스퍼질러스 오리자에(*A. oryzae*), 아스퍼질러스 시로우사미(*A. shirousamii*), 아스퍼질러스 소자에(*A. sojae*), 아스퍼질러스 타마리(*A. tamarii*), 리조푸스 텔레마(*Rhizopus delemar*), 리조푸스 올리고스포르스(*Rhizopus oligosporus*) 등이 있다.

<22>       상기 균주가 접종된 콩배아를 활성화시키기 위하여, 숙성온도 15 내지 55℃, 바람직하게는 32℃ 내지 43℃, 숙성습도 40% 내지 100%, 바람직하게는 80% 내지 99% 및 숙성 pH 3 내지 10을 유지시키면서 1 내지 8일 동안, 바람직하게는 3 내지 5일 동안 숙성시킴으로서 콩배아 코오지를 제조할 수 있다.

<23>       또한, 본 발명에서는 장류의 향미를 위해 효모 또는 젖산균을 추가로 첨가할 수 있다. 사용가능한 효모로는 사카로마이세스 록시(*Saccharomyces rouxii*), 토룰롭시스 다틸라(*Torulopsis dattila*), 토룰롭시스 에트벨시(*Torulopsis etcbellsii*), 토룰롭시스 베르사틸리스(*Torulopsis versatilis*), 자이코사카로마이세스 록시(*Zygosaccharomyces rouxii*) 등으로서 당분야에서 통상적으로 사용되는 것이고, 젖산균으로는 페디오코커스 할필러스(*Pediococcus halphilus*), 페디오코커스 소자에(*Pediococcus sojae*), 테트라코커스 소자에(*Tetracoccus sojae*) 등이 있다.

<24> 본 발명의 콩배아를 함유하는 장류 중, 특히 된장은 콩배아를 원료로 한 코오지만을 사용하여 제조하거나; 콩배아 코오지와 전분 함유 곡물의 코오지의 혼합물로부터 제조하거나; 전분 함유 곡물 또는 그의 분말로부터 제조된 코오기와 증자된 콩배아를 혼합하여 사용함으로써 제조할 수 있다.

<25> 콩배아를 원료로 한 코오지만을 사용한 된장 제조방법은 다음과 같다. 상기에서 제조된, 된장의 총량을 기준으로 5 내지 97 중량%의 콩배아 코오지에 된장의 향미를 위하여 효모 또는 젖산균을 된장의 총량을 기준으로 하여 0.01 내지 10 중량%, 바람직하게는 0.1 내지 5 중량%의 양으로 접종한다. 이어서, 여기에 식염 및 종수를 된장의 총량을 기준으로 하여 각각 1 내지 40 중량% 및 0 내지 40 중량%, 바람직하게는 각각 5 내지 25 중량% 및 0.5 내지 2 중량%의 양으로 가하고, 숙성온도 15 내지 55℃, 바람직하게는 25 내지 35℃ 및 숙성습도 40 내지 90%, 바람직하게는 70 내지 80%에서 25 내지 360일, 바람직하게는 90 내지 120일 동안 숙성시켜 이소플라본이 다량 함유된 된장을 제조할 수 있다.

<26> 또한, 콩배아 코오지와 전분 함유 곡물의 코오지의 혼합물로부터 된장을 제조하는 방법은 다음과 같다. 먼저 상기에서 제조한 콩배아 코오지를 준비한다. 다음으로 전분 코오지를 제조함에 있어 전분함유 곡물 또는 그의 분말, 예를 들어 백미, 보리, 밀, 밀가루, 쌀보리, 밀쌀, 밀기울, 정맥, 압맥, 소맥, 나맥, 파쇄미, 찹쌀 등으로 코오지를 제조한다. 구체적으로 백미 코오지의 경우, 선별된 백미를 5 내지 30시간, 바람직하게는 10 내지 20시간 동안 침지시킨다. 침지된 백미를 증자기에 넣어 90 내지 140℃, 바람직하게는 110 내지 120℃에서 증자한



다. 증자된 백미를 식힌 후 황국균을 증자된 백미의 0.01 내지 10 중량%, 바람직하게는 0.1 내지 5 중량%의 양으로 접종한다.

<27>       상기 황국균이 접종된 백미 코오지를 활성화시키기 위하여, 숙성온도는 15 내지 55℃, 바람직하게는 32℃ 내지 43℃를 유지시키고 숙성습도는 40% 내지 100%, 바람직하게는 80% 내지 99%를 유지시키면서 1 내지 8일 동안, 바람직하게는 3 내지 5일 동안 숙성시킨다. 이어서, 된장의 총량을 기준으로 5 내지 97 중량%, 바람직하게는 20 내지 55 중량%의 앞서 제조된 콩배아 코오지와 된장의 총량을 기준으로 하여 1 내지 95 중량%, 바람직하게는 25 내지 70 중량%의 상기 제조된 백미 코오지를 혼합한다. 여기에 된장의 향미를 위하여 효모 또는 젖산균을 된장의 총량을 기준으로 하여 0.01 내지 10 중량%, 바람직하게는 0.1 내지 5 중량%의 양으로 접종한다. 이어서, 여기에 식염 및 중수를 된장의 총량을 기준으로 하여 각각 1 내지 40 중량% 및 0 내지 40 중량%, 바람직하게는 각각 5 내지 25 중량% 및 0.5 내지 2 중량% 가하고, 숙성온도 15 내지 55℃, 바람직하게는 25 내지 35℃ 및 숙성습도 40 내지 90%, 바람직하게는 70 내지 80%에서 25 내지 360일, 바람직하게는 25일 내지 60일 동안 숙성시켜 이소플라본이 다량 함유된 된장을 제조할 수 있다.

<28>       한편, 전분 함유 곡물 또는 그의 분말로부터 제조된 코오지와 증자된 콩배아를 혼합하여 된장을 제조하는 방법은 다음과 같다. 상기에서 제조한 전분함유 코오지와 증자된 콩배아를 사용하여 제조한다. 먼저 콩배아를 선별하여 5 내지 30 시간, 바람직하게는 10 내지 20 시간 동안 침지시킨다. 침지된 콩배아를 증자기에

넣어 90 내지 140℃, 바람직하게는 110 내지 120℃에서 증자시킨 다음 식힌다.  
 된장의 총량을 기준으로 5 내지 97 중량%, 바람직하게는 20 내지 55 중량%의 증  
 자된 콩배아와 된장의 총량을 기준으로 하여 1 내지 95 중량%, 바람직하게는 25  
 내지 70 중량%의 상기 제조된 백미 코오지를 혼합한다. 여기에 된장의 향미를  
 위하여 효모 또는 젖산균을 된장의 총량을 기준으로 하여 0.01 내지 10 중량%,  
 바람직하게는 0.1 내지 5 중량%의 양으로 접종한다. 이어서, 여기에 식염 및 종  
 수를 된장의 총량을 기준으로 하여 각각 1 내지 40 중량% 및 0 내지 40 중량%,  
 바람직하게는 각각 5 내지 25 중량% 및 0.5 내지 2 중량% 가하고, 숙성온도 15  
 내지 55℃, 바람직하게는 25 내지 35℃ 및 숙성습도 40 내지 90%, 바람직하게는  
 70 내지 80%에서 25일 내지 360일, 바람직하게는 25 내지 60일 동안 숙성시켜 이  
 소플라본이 다량 함유된 된장을 제조할 수 있다.

<29> 또한, 본 발명에서는 콩배아를 이용하여 장류 중 하나인 고추장을 제조할  
 수 있다. 고추장의 제조방법은 상기한 된장의 제조방법과 동일하며 여기에 고춧  
 가루를 추가로 첨가하는데 특징이 있다. 즉, 콩배아 함유 고추장은 콩배아를 원  
 료로한 코오지만을 사용하여 제조하거나; 콩배아 코오지와 전분 함유 곡물의 코  
 오지의 혼합물로부터 제조하거나; 전분 함유 곡물 또는 그의 분말로부터 제조된  
 코오지와 증자된 콩배아를 혼합하여 사용함으로써 제조할 수 있다.

<30> 상기 방법에 따라 제조된 콩배아 장류는, 장류의 총량을 기준으로 하여 5  
 내지 97 중량%의 콩배아, 1 내지 95 중량%의 전분 함유 곡물, 1 내지 40 중량%의  
 식염, 0 내지 40 중량%의 종수 및 0 내지 40 중량%의 고춧가루를 포함한다.

<31> 본 발명의 방법에 따라 제조된 장류내 이소플라본 및 어글리콘 형태의 이소플라본의 함량은 0.1 내지 3 중량%로서 기존의 콩을 주원료로 하는 장류에 비해 8배 이상 많을 뿐만 아니라, 일반 배아만이 갖는 특성, 즉, 강한 생명력과 영양소의 정수를 갖는 장점이 있다. 또한, 각종 비타민류, 플라보노이드(flavonoids), 사포닌(saponin), 폴리페놀류(poly-phenol) 등을 함유하고 있어 항산화 및 항암작용 효과를 갖는다.

<32> 이하 본 발명을 하기 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

<33> 참조예 1: 황국균을 이용한 백미 코오지 제조

<34> 백미 110.5g을 물로 세척하여 물에 14 시간 동안 침지 시킨 다음, 침지된 백미(204.8g)를 121℃에서 20분간 멸균한 후 110℃에서 30분간 증자시켰다. 증자된 백미를 37℃에서 방냉한 다음, 여기에 진탕 배양된 황국균(*Aspergillus oryzae*; 한국유전자은행) 2ml(건조중량 3.03mg/ml)를 접종한 후 접종균이 백미에 골고루 잘 퍼지도록 혼합하여 준다. 균이 접종된 백미를 상대 습도 95%로 유지하면서 35℃에서 14시간, 33℃에서 9시간, 39℃에서 15시간, 39℃에서 9시간, 42℃에서 15시간, 43℃에서 6시간 배양하면서 접종균이 발아되기 쉽고 빠른 활성화 및 부분 승온을 막기 위해 각 온도별 단계마다 잘 혼합시켜 코오지를 제조하였다.

<35> 실시예 1: 고초균을 이용한 콩배아 코오지 제조

<36> 콩배아 65g을 정선하여 세척한 후 물에 16시간 침지시킨 다음, 침지된 콩배아(167.1g)를 121℃에서 20분간 멸균한 후 114℃에서 100분간 증자시켰다. 증자된 콩배아를 37℃에서 방냉한 다음, 여기에 진탕 배양된 고초균(*Bacillus subtilis*; 한국유전자은행) 1.71ml( $1.2 \times 10^9$  개 포자/ml)을 접종한 후 접종균이 콩배아에 골고루 잘 퍼지도록 혼합하여 준다. 균이 접종된 콩배아를 상대 습도 95%로 유지하면서 35℃에서 14시간, 33℃에서 9시간, 39℃에서 15시간, 39℃에서 9시간, 42℃에서 15시간, 43℃에서 6시간 배양하면서 접종균이 발아되기 쉽고 빠른 활성화 및 부분승온을 막기 위해 각 온도별 단계마다 잘 혼합시켜 코오지를 제조하였다.

<37> 실시예 2: 황국균을 이용한 콩배아 코오지 제조

<38> 콩배아 300g을 정선하여 세척한 후 물에 16시간 동안 침지시킨 다음, 침지된 콩배아(771g)를 121℃에서 20분간 멸균한 후 114℃에서 100분간 증자시켰다. 증자된 배아를 37℃에서 방냉한 다음, 여기에 진탕 배양된 황국균 4ml(건조중량 3.03mg/ml)를 접종한 후 접종균이 콩배아에 골고루 잘 퍼지도록 혼합하여 준다. 균이 접종된 콩배아를 상대 습도 95%로 유지하면서 35℃에서 14시간, 33℃에서 9시간, 39℃에서 15시간, 39℃에서 9시간, 42℃에서 15시간, 43℃에서 6시간 배양하면서 접종균이 발아되기 쉽고 빠른 활성화 및 부분 승온을 막기 위해 각 온도별 단계마다 잘 혼합시켜 코오지를 제조하였다.

<39> 비교예 1: 고초균을 이용한 콩 코오지 제조

<40>       콩 65g을 물로 세척하여 물에 16시간 동안 침지시킨 다음, 침지된 콩 (167.1g)을 121℃에서 20분간 멸균한 후 114℃에서 100분간 증자시켰다. 증자된 콩을 37℃에서 방냉한 다음, 여기에 진탕 배양된 고초균(*Bacillus subtilis*; 한국유전자은행) 1.71ml( $1.2 \times 10^9$  개 포자/ml)을 접종한 접종균이 콩에 골고루 잘 퍼지도록 혼합하여 준다. 균이 접종된 콩을 상대 습도 95%로 유지하면서 35℃에서 14시간, 33℃에서 9시간, 39℃에서 15시간, 39℃에서 9시간, 42℃에서 15시간, 43℃에서 6시간 배양하면서 접종균이 발아되기 쉽고 빠른 활성화 및 부분 승온을 막기 위해 각 온도별 단계마다 잘 혼합시켜 코오지를 제조하였다.

<41> 비교예 2: 황국균을 이용한 콩 코오지 제조

<42>       콩 65g을 물로 세척하여 물에 16시간 동안 침지시킨 다음, 침지된 콩 (167.1g)을 121℃에서 20분간 멸균한 후 114℃에서 100분간 증자시켰다. 증자된 콩을 37℃에서 방냉한 다음, 여기에 진탕 배양된 황국균(*Aspergillus oryzae*; 한국유전자은행) 1.71ml(건조중량 3.03mg/ml)을 접종한 후 접종균이 콩에 골고루 잘 퍼지도록 혼합하여 준다. 균이 접종된 콩을 상대 습도 95%로 유지하면서 35℃에서 14시간, 33℃에서 9시간, 39℃에서 15시간, 39℃에서 9시간, 42℃에서 15시간, 43℃에서 6시간 배양하면서 접종균이 발아되기 쉽고 빠른 활성화 및 부분 승온을 막기 위해 각 온도별 단계마다 잘 혼합시켜 코오지를 제조하였다.

<43> 시험예 1 : 콩배아 및 콩 코오지내 아밀라아제 및 프로테아제 활성 분석

<44>       상기 실시예 1 및 2, 및 비교예 1 및 2에서 제조된 콩 배아 및 콩 코오지내 아밀라아제와 프로테아제 활성을 측정하였다. 조효소액 준비는 시료 2g을 증류수 5ml에 넣고 혼합하여 추출한 후 원심분리하여 상정액을 조효소 액으로 사용하

였다. 아밀라아제 활성 측정 방법은 먼저 2ml의 0.02M 초산완충용액(pH 5.4)에 5ml의 0.5% 가용성 전분용액, 1ml의 1% NaCl용액, 0.8ml의 증류수를 시험관에 넣고 60℃에서 5분간 예열시켰다. 효소액 0.2ml를 넣고 10분간 반응시킨 후 100℃ 끓는 물에 담가 반응을 정지시킨 다음, 여과지(Whatman No.1)를 사용하여 침전물을 제거하였다. 이어서, 여액 1ml를 취하여 3ml의 DNS(dinitrosalicylic acid) 용액과 혼합하고 끓는 물에서 5분간 반응시킨 후, 상온으로 냉각시킨 다음 분광광도계로 550nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 흡광도 값은 맥아당(maltose) 표준곡선으로부터 맥아당 함량으로 환산하였다. 효소단위는 분당 1mmol의 맥아당을 유리시키는 효소의 양으로 정의한다. 프로테아제 활성 측정법은 식품분석학(강국희 외 3, 식품분석학, 성균관대학교 출판부, 427 (1998))의 방법을 따라 분광광도계로 660nm에서 측정하여 그 결과(unit/ml)를 각각 표 1 및 2에 나타내었다.

<45> 【표 1】

아밀라아제 함량

활성시간 (시간)	실시예 1 (단위/ml)	실시예 2 (단위/ml)	비교예 1 (단위/ml)	비교예 2 (단위/ml)
0	0	0	0	0
14	0.411	0.673	0.336	0.198
23	0.664	1.011	0.354	0.432
38	0.615	1.031	0.589	0.665
47	0.634	0.900	0.609	0.743
62	0.429	0.817	0.563	0.662
68	0.318	0.783	0.544	0.695

<46>      상기 표 1에서 보듯이, 고초균을 이용한 콩배아 코오지(실시예 1)에서는 초기에서 23시간까지 빠른 증가를 보인 후 포화되어 47시간 이후에는 급속히 감소

하는 반면, 콩 코오지(비교예 1)에서는 초기부터 38시간까지 서서히 증가하여 포화된 후 47시간 이후에는 약하게 둔감되는 경향을 나타내었다. 이로부터 고초균을 이용할 경우 콩배아 코오지가 콩 코오지에 비하여 초기에 높은 아밀라아제 활성을 보이는 것을 알 수 있다.

<47> 한편, 황국균을 이용한 콩배아 코오지(실시예 2)에서 아밀라아제는 초기에서 23시간까지 상당히 급하게 증가한 후 38시간 이후에는 서서히 감소하는 경향을 보이는 반면, 콩 코오지(비교예 2)에서는 초기부터 47시간까지 완만하게 증가한 후 포화되는 경향을 보이고 있다.

<48> 이상의 결과를 통하여 고초균과 황국균 모두에서 빠른 시간안에 높은 활성의 효소를 분비하여 코오지 제조용 소재로서 콩보다 우수함을 알 수 있다.

<49> 【표 2】

프로테아제 함량

활성시간 (시간)	실시예 1 (단위/ml)	실시예 2 (단위/ml)	비교예 1 (단위/ml)	비교예 2 (단위/ml)
0	0	0	0	0
14	1.021	0.747	0.462	0.352
23	1.608	1.182	0.679	0.932
38	2.218	2.192	1.054	1.567
47	2.01	2.172	1.329	1.638
62	1.902	2.152	1.164	1.769
68	1.318	1.629	1.377	1.800

<50> 상기 표 2에서 보듯이, 고초균을 이용한 콩배아 코오지(실시예 1)에서는 38시간까지는 급격히 증가하여 정점을 나타낸 이후에 프로테아제 활성이 점차 줄어드는 반면, 콩 코오지(비교예 1)에서는 47시간까지는 일정하게 증가하는 경향을 보인다

후 다소 둔감한 증가량을 나타낸다. 이로부터 고초균을 이용한 경우, 동일하게 콩배아 코오지가 보다 빠른 시간내에 더 많은 프로테아제를 생산함을 알 수 있다.

<51> 한편, 황국균을 이용한 콩배아 코오지(실시예 2)는 38시간까지 급속한 증가를 보인 다음, 증가율의 변화가 거의 없다가 프로테아제의 활성이 줄어드는 반면, 콩 코오지(비교예 2)에서는 38시간까지는 일정하게 증가하다가 이후에는 다소 둔화되는 경향을 나타낸다. 이로부터 황국균을 이용한 경우, 콩배아 코오지가 보다 빠른 시간내에 더 많은 프로테아제를 생산함을 알 수 있다.

<52> 이들의 결과를 종합하여 볼 때 콩배아를 이용한 코오지 제조시 콩과는 달리 단백 분해효소가 빠른 시간내에 왕성하게 분비되는 것을 확인하였으며, 이는 코오지 소재로서 오히려 콩보다 우수함을 보여주었다.

<53> 시험예 2: 콩배아 및 콩 코오지내 베타-글루코시다아제 활성 및 pH 변화 측정

<54> 베타-글루코시다아제의 역가는  $p$ -니트로페닐- $\beta$ -D-글루코피라노사이드(PNPG)를 기질로 하여 측정하였다. 조효소액 준비는 시료 2g을 증류수 5ml에 넣고 혼합하여 추출한 후 원심분리하여 상정액을 조효소 액으로 사용하였다.

0.5ml의 PNPG 용액(2mM, 0.1M 아세테이트 완충용액(acetate buffer), pH 4.5)에 효소용액 0.1ml을 넣고 30℃ 항온수조에서 10분간 반응시킨 후, 0.9ml의 1M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 를 첨가하여 반응을 정지시키고 분광광도계(spectrophotometer; 덕산 메카시스(주))를 이용하여 405nm에 흡광도를 측정하여 하기 표 3에 나타내었으며, 1단위(unit)는 상기 조건하에서 1uM의 니트로페놀(nitrophenol)을 형성하는 효소의 양으로 정의하였다(김



무성과 최영길, 감귤류 변패의 원인균인 *penicillium sp. -L47*가 생성하는 식물세포벽 분해 효소의 작용양상, *Kor. J. Appl. Microbio. Biotechnol.*, 25(2), 115-120(1997)). pH 변화는 pH 미터(이스텍기기)로 pH 탐침부(probe)를 제조된 조효소액에 직접 측정하여 표 4에 나타내었다.

<55> 【표 3】

활성시간 (시간)	실시예 1 (단위/ml)	실시예 2 (단위/ml)	비교예 1 (단위/ml)	비교예 2 (단위/ml)
0	0	0	0	0
14	0.38	0.07	0	0.033
23	0.59	-	0.106	0.360
38	39.0	4.0	0.245	2.750
47	47.13	39.63	0.368	0.875
62	45.88	81.50	0.499	0.826
68	47.75	87.13	0.572	0.572

<56>       상기 표 3에서 보듯이, 고초균을 이용한 경우에는 콩배아 코오지(실시예 1)의 베타-글루코시다아제의 효소활성이 콩 코오지(비교예 1)에 비하여 최대 83배나 높아 활성 차이를 보여준다.

<57>       한편, 황국균(*Aspergillus oryzae*)을 이용한 경우, 고초균에 의해 제조된 코오지와 비슷한 경향으로 콩배아 코오지(실시예 2)에서의 베타-글루코시다아제 활성은 콩 코오지(비교예 2)에 비하여 약 32배 정도 높음을 알 수 있다.

<58>       이들의 결과를 종합하여 볼 때 콩배아를 이용한 코오지 제조시 사용되는 코오지 균에 따라 최대 활성은 다소 차이가 있을 수 있으나 공통적으로 콩배아 코오지에서 콩에 비하여 뚜렷한 베타-글루코시다아제 활성의 증가효과가 확인되었

다. 이를 통하여 콩배아가 코오지 원료로 사용됨에 있어 오히려 콩에 비하여 우수한 효소 활성을 부여하는 소재로 손색이 없음을 확인하였다.

<59> 【표 4】

활성시간 (시간)	실시예 1	실시예 2	비교예 1	비교예 2
0	6.13	6.25	5.12	5.96
14	6.51	6.19	6.15	5.81
23	6.74	6.14	6.42	5.86
38	7.81	7.04	6.55	6.63
47	7.63	6.9	6.95	6.54
62	7.2	7.05	7.28	6.66
68	7.17	7.21	6.97	6.73

<60> 고초균과 황국균을 이용한 코오지에서 pH는 콩과 콩배아의 차이에 의한 초기 pH의 차이가 뚜렷하며 코오지 제조 중의 pH 변화는 공통적으로 시간이 경과함에 따라 증가하는 것으로 나타났다.

<61> 시험예 3: 콩배아 및 콩 코오지내 이소플라본 함량 및 어글리콘 함량 변화 측정

<62> 이소플라본 및 어글리콘의 함량은 고압액체크로마토그래피(HPLC, (주)영린 기기)하여 260 nm에서 측정하였다. 이동상으로는 15%, 35% 아세토니트릴(acetonitril) 용액으로 농도 그라디언트(gradient)를 이용하였다(프로그램: 모드 2(선형구배), 컬럼: YMC-Pack ODS-AM (AM-303) 250 ×4.6 mm I.D. / S-5  $\mu$ m, 120A, 검색기 : 260 nm, 유동율: 1.0 ml/min, 작동시간: 50 min). 실시예 1, 2 및 비교예 1, 2의 코오지는 건조하여 분말로 만든 후 각 50mg을 70% 알코올(EtOH) 3ml에 녹인 후 60℃ 항온수조에서 30분간 추출하여 원심분리기(Micro-12 : 한일과학산업주식회사)를 이용하여 상침액을 취해 알코올에 10배 희석 후

여과(0.45  $\mu$ m)하여 여액 20 $\mu$ l를 고압액체크로마토그래피에 주입하여 260 nm에서 측정하였다(Shigemitsu K. et al., *J. Biol. Chem.*, 55(9), 2227-2233(1991)).

그 결과는 하기 표 5에 나타내었다.

<63> 【표 5】

	활성시간(일)	0	3	4	6
실시예 1	전체 이소플라본 (mg/g)	21.2	20.1	23.1	25.0
	어글리콘 이소플라본(mg/g)	4.7	11.9	14.2	22.1
실시예 2	전체 이소플라본(mg/g)	25.0	23.4	23.7	24.1
	어글리콘 이소플라본(mg/g)	5.5	5.9	6.6	14.1
비교예 1	전체 이소플라본(mg/g)	2.8	3.0	2.2	2.1
	어글리콘 이소플라본(mg/g)	0	2.2	2.2	2.1
비교예 2	전체 이소플라본(mg/g)	2.1	3.0	2.0	2.6
	어글리콘 이소플라본(mg/g)	0	0.5	0.8	2.6

<64>       상기 표 5에서 보듯이, 콩배아 코오지 제조(실시예 1 및 2)에서 이소플라본 함량의 변화는 거의 없지만 어글리콘 이소플라본 양은 점차적으로 증가하고 있다. 이는 고초균과 황국균에 의한 베타-글루코시다아제의 생산에 의한 것이다. 또한, 콩 코오지 제조(비교예 1 및 2)에서도 콩배아와 같은 경향으로 이소플라본 함량의 변화는 미미하고 어글리콘 이소플라본 함량은 증가하였다.

<65>       이로부터 콩배아 코오지 제조에서 이소플라본 함량은 콩 코오지에 비하여 약 8배 이상 높은 상태를 그대로 유지하고 있으며 시간의 경과에 따라 소화흡수가 용이한 어글리콘 형태로 전환됨이 확인되어 기능적으로도 콩에 비하여 훨씬 우수한 콩배아 코오지 제조가 가능함을 확인하였다.

<66> 실시예 3 : 응용된 개량식 방법을 이용한 된장의 제조

<67> 상기 실시예 1에서 제조된 콩배아 코오지와 참조에 1에서 제조된 백미 코오지를 하기 표 6에 나타난 성분비로 혼합하고, 식염 21.5g, 종수(멸균수) 4ml 및 차이코사카로마이세스 렉시(*Zygosaccharomyces rouxii*; 한국유전자은행) 2ml( $1 \times 10^{10}$  개 포자/ml)를 넣고 균일하게 섞어 혼합 담금을 하여 32℃, 습도 75%에서 50일 동안 숙성시켰다.

<68> 비교예 3

<69> 상기 비교예 1에서 제조된 콩 코오지를 콩배아 코오지 대신에 사용하는 것을 제외하고 상기 실시예 3과 동일한 방법을 사용하여 하기 표 6과 같은 총 된장에 대한 성분비로 된장을 제조하였다.

<70> 【표 6】

구분	콩배아 코오지 (중량%)	콩 코오지 (중량%)	백미 코오지 (중량%)	장제염 (중량%)
실시예 3	51.0	0	42.5	6.5
비교예 3	0	51.0	42.5	6.5

<71> 시험예 4

<72> 실시예 3에서 제조된 된장내 영양소를 일반분석 방법(건조된 시료)을 사용하여 시판되는 된장과 비교측정하여 하기 표 7에 나타내었다.

<73> 【표 7】

구분 항목	조단백질 (중량%)	조지방 (중량%)	탄수화물 (중 량%)	회분 (중량%)	기타 (중량%)
실시예 3	19.4	4.2	45.0	14.1	17.3
시판된장 A	28.0	10.0	28.6	29.6	3.8

<74>      상기 표 7에서 보듯이, 실시예 3의 방법으로 제조된 된장은 시판되고 있는 된장에 비하여 조단백질, 조지방 및 회분 함량은 적고 탄수화물과 기타 성분은 더 많은 것으로 나타났다. 이것은 콩배아 코오지를 이용하여 제조한 된장은 기존의 된장과 차이가 남을 알 수 있다.

<75>      실시예 4 : 재래식 방법을 이용한 된장의 제조

<76>      하기 표 8에 나타난 성분비와 같이 실시예 2의 방법에 따라 제조한 콩배아 코오지에 식염 60g, 효모(*Zygosaccharomyces rouxii*) 4ml( $1 \times 10^9$  개 포자/ml) 및 종수(멸균수) 8ml를 첨가하여 넣고 균일하게 섞어 혼합 담금을 하여 32℃, 습도 75%에서 50일 동안 숙성시켜 된장을 제조하였다.

<77>      비교예 4

<78>      콩 300g을 사용하여 비교예 2의 방법에 따라 제조된 콩 코오지를 콩배아 코오지 대신에 사용하는 것을 제외하고 상기 실시예 4와 동일한 방법으로 하기 표 8과 같은 총 된장에 대한 성분비로 된장을 제조하였다.

<79>      【표 8】

구 분	콩 배아(중량%)	콩(중량%)	식염(중량%)
실시예 4	83.3	0	16.7
비교예 4	0	83.3	16.7

<80>      실시예 5 : 개량식 방법을 이용한 된장의 제조

<81> 콩배아 65g를 정선하여 세척한 후 물에 16 시간 동안 침지 시킨 다음, 침지된 콩배아(167.1g)를 121℃에서 20분간 멸균한 후 114℃에서 100분간 증자시켰다. 증자된 콩배아를 37℃에서 방냉하여 준비하였다.

<82> 상기 참조예 1의 방법을 사용하여 백미 코오지를 제조하여 증자된 콩배아와 혼합한 다음, 식염 21.5g, 종수(멸균수) 4ml 및 자이고사카로마이세스 렉시(*Zygosaccharomyces rouxii*) 2ml( $1 \times 10^9$  개 포자/ml)를 넣고 균일하게 섞어 혼합 담금을 하여 32℃, 습도 75%에서 50일 동안 숙성시켜 된장을 제조하였다.

<83> 비교예 5

<84> 콩배아 대신에 콩 65g을 사용하는 것을 제외하고는 상기 실시예 5와 동일한 방법을 사용하여 하기 표 9와 같은 총 된장에 대한 성분비로 된장을 제조하였다.

<85> 【표 9】

	콩배아 (중량%)	콩 (중량%)	백미 (중량%)	정제염 (중량%)
실시예 5	33.0	0	56.1	10.9
비교예 5	0	33.0	56.1	10.9

<86> 시험예 5

<87> 상기 실시예 3 내지 5 및 비교예 3 내지 5에서 제조된 된장의 숙성시간에 따른 이소플라본의 함량을 상기 시험예 3과 동일한 방법으로 측정하여 그 결과를 표 10에 나타내었다.

<88>

【표 10】

숙성시간 (일)	1	3	7	9	11	21	33	38	46
실시예 3 (mg/g)	12.02	10.66	11.80	12.84	12.91	13.43	12.865	13.03	10.36
비교예 3 (mg/g)	-	0.75	-	0.67	0.65	0.68	0.65	0.65	0.77
실시예 4 (mg/g)	21.9	21.9	22.8	23.2	24.8	25.0	-	-	-
비교예 4 (mg/g)	2.86	2.79	2.64	2.89	2.95	3.00	-	-	-
실시예 5 (mg/g)	-	11.98	11.98	13.61	11.62	14.02	-	-	13.10
비교예 5 (mg/g)	0.94	-	-	0.81	-	0.70	-	-	-

<89>       상기 표 10에서 보듯이, 실시예 3 내지 5에서 제조된 콩배아 된장내 이소플라본의 함량은 콩으로 제조된 된장에 비하여 매우 높음을 알 수 있다.

<90> 시험예 6

<91>       상기 실시예 3 내지 5 및 비교예 3 내지 5에서 제조된 된장의 숙성 과정에서 어글리콘 형태의 이소플라본의 함량을 상기 시험예 3과 동일한 방법으로 측정하여 하기 표 11에 나타내었다.

<92>

【표 11】

환성시간 (일)	1	3	7	9	11	21	33	38	46
실시예 3 (mg/g)	12.02	10.66	11.80	12.84	12.91	13.43	12.87	13.03	10.36
비교예 3 (mg/g)	-	0.75	-	0.67	0.65	0.68	0.65	0.65	0.77
실시예 4 (mg/g)	9.60	9.60	10.10	10.50	11.80	12.80	-	-	-
비교예 4 (mg/g)	1.90	1.90	1.76	2.03	-	2.34	-	-	-
실시예 5 (mg/g)	-	4.61	7.72	9.50	8.16	10.47	-	-	10.36
비교예 5 (mg/g)	0	-	-	0.81	-	0.67	-	-	-

<93>      상기 표 11에서 보듯이, 실시예 3 내지 5에서 제조된 콩배아 된장은, 활성형인 어글리콘 형태의 이소플라본을 콩으로 제조된 된장에 비하여 8배이상 높게 함유하고 있어 기능적으로도 매우 우수함을 알 수 있다.

<94> 실시예 6 : 콩배아 코오지를 이용한 고추장 제조

<95>      상기 실시예 1에서 제조된 콩배아 코오지 83.5g과 참조예 1에서 제조된 백미 코오지 30g을 혼합하고, 증자한 밀가루(110 ℃, 50분) 80g, 고춧가루 27.5g, 식염 25g, 종수(멸균수) 80ml 및 자이고사카로마이세스 렉시(*Zygosaccharomyces rouxii*) 5ml( $1 \times 10^9$  개 포자/ml)를 넣고 균일하게 섞은 다음, 혼합 담금을 하여 25℃, 습도 75%에서 60일 동안 숙성시켰다. 사용된 성분의 비를 표 12에 나타내었다.

<96> 비교예 6



<97> 콩배아 코오지 대신에 콩 코오지 83.5g을 사용하는 것을 제외하고는 상기 실시예 6과 동일한 방법을 사용하여 하기 표 12와 같은 성분비로 고추장을 제조하였다.

<98> 【표 12】

	콩배아 (중량%)	콩 (중량%)	참깨 (중량%)	밀가루 (중량%)	고춧가루 (중량%)	정제염 (중량%)	종수 (중량%)
실시예 6	12.1	0	8.9	29.7	10.2	9.3	29.8
비교예 6	0	12.1	8.9	29.7	10.2	9.3	29.8

<99> 시험예 7

<100> 상기 실시예 6 및 비교예 6에서 제조된 고추장의 숙성시간에 따른 이소플라본의 함량을 상기 시험예 3과 동일한 방법으로 측정하여 그 결과를 각각 표 13에 나타내었다.

<101> 【표 13】

숙성시간(일)	0	14	29	45
실시예 6 (mg/g)	9.44	6.81	7.03	6.83
비교예 6 (mg/g)	t	t	t	t
※ t : 흔적(trace: 0.5 mg/g 이하)				

<102>       상기 표 13에서 보듯이, 실시예 6에서 제조된 콩배아 고추장은, 콩배아 된장과 유사하게 기능성 소재인 이소플라본이 시간이 경과하여도 소실되지 않고 활성형으로 모두 전환되어 기능적인 면에서도 매우 우수함을 알 수 있었다.

**【발명의 효과】**

<103>       이상과 같이 본 발명의 콩배아를 이용한 코오지 및 장류는 이소플라본 및 흡수가 용이한 어글리콘 형태의 이소플라본의 함량이 높아 기능성 면에서도 매우 우수할 뿐만 아니라 아밀라아제 및 프로테아제 활성도 높아 단맛 및 구수한 맛이 매우 우수하여 된장을 비롯한 장류에 유용하게 사용될 수 있다.

**【특허청구범위】****【청구항 1】**

코오지의 제조방법에 있어서, 콩배아를 사용하는 것을 특징으로 하는 방법.

**【청구항 2】**

제 1 항에 있어서,

고초균, 황국균 또는 이들의 혼합물을 콩배아의 총량을 기준으로 하여 0.01 내지 10 중량% 접종하는 것을 특징으로 하는 방법.

**【청구항 3】**

제 1 항에 있어서,

- 1) 콩배아를 5 내지 30 시간 동안 침지시키는 단계;
- 2) 침지된 콩배아를 90 내지 140℃에서 증자시키는 단계;
- 3) 증자된 콩배아에 고초균, 황국균 또는 이들의 혼합물을 콩배아의 총량을 기준으로 하여 0.01 내지 10 중량%의 양으로 접종하는 단계; 및
- 4) 균주가 접종된 콩배아를 숙성온도 15 내지 55℃, 숙성습도 40 내지 100% 및 숙성 pH 3 내지 10에서 1 내지 8일 동안 숙성시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**【청구항 4】**

제 2 항 또는 제 3 항에 있어서,

상기 고초균이 바실러스 브레비스(*B. brevis*), 바실러스 리체니포미스(*B. licheniformis*), 바실러스 나토(*B. natto*), 바실러스 폴리믹사(*B. polymixa*), 바실러스 푸밀리스(*B. pumilis*) 또는 바실러스 서브틸리스(*B. subtilis*)인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 【청구항 5】

제 2 항 또는 제 3 항에 있어서,

상기 황국균이 아스퍼질러스 아와모리(*A. awamori*), 아스퍼질러스 카와치(*A. kawachii*), 아스퍼질러스 니거(*A. niger*), 아스퍼질러스 오리자에(*A. oryzae*), 아스퍼질러스 시로우사미(*A. shirousamii*), 아스퍼질러스 소자에(*A. sojae*), 아스퍼질러스 타마리(*A. tamarii*), 리조푸스 텔레마(*Rhizopus delemar*) 또는 리조푸스 올리고스포러스(*Rhizopus oligosporus*)인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 【청구항 6】

제 1 항의 방법에 의해 제조된, 콩배아를 5 내지 100 중량% 함유하는 콩배아 코오지.

#### 【청구항 7】

장류의 제조방법에 있어서, 콩배아를 사용하는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 【청구항 8】

제 7 항에 있어서,

콩배아의 사용량이 장류의 총량을 기준으로 하여 5 내지 97 중량%인 것을 특징으로 하는 방법.

## 【청구항 9】

제 7 항에 있어서,

증자시킨 콩배아를 전분 함유 곡물 코오지와 혼합하는 것을 특징으로 하는 방법.

## 【청구항 10】

제 7 항에 있어서,

- 1) 전분 함유 코오지를 제조하는 단계;
  - 2) 콩배아를 침기시킨 다음 증자시키는 단계;
  - 3) 장류의 총량을 기준으로 하여 5 내지 97 중량%의 증자된 콩배아 및 1 내지 95 중량%의 전분 함유 코오지를 혼합하는 단계;
  - 4) 효모 또는 젖산균을 장류의 총량을 기준으로 하여 0.01 내지 10 중량%의 양으로 접종하는 단계;
  - 5) 장류의 총량을 기준으로 하여 1 내지 40 중량%의 식염, 0 내지 40 중량%의 종수 및 0 내지 40 중량%의 고추가루를 가하는 단계; 및
  - 6) 숙성온도 15 내지 55℃, 숙성습도 40 내지 90%에서 25 내지 360일 동안 숙성시키는 단계
- 를 포함하는 특징으로 하는 방법.

## 【청구항 11】

장류의 제조방법에 있어서, 콩배아 코오지를 사용하는 것을 특징으로 하는 방법.

**【청구항 12】**

제 11 항에 있어서,

콩배아 코오지의 사용량이 장류의 총량을 기준으로 하여 5 내지 97 중량%인 것을 특징으로 하는 방법.

**【청구항 13】**

제 11 항에 있어서,

- 1) 콩배아 코오지를 제조하는 단계;
  - 2) 콩배아 코오지에 효모 또는 젖산균을 장류의 총량을 기준으로 하여 0.01 내지 10 중량%의 양으로 접종하는 단계;
  - 3) 균주가 접종된 콩배아 코오지에 장류의 총량을 기준으로 하여 1 내지 40 중량%의 식염, 0 내지 40 중량%의 종수 및 0 내지 40 중량%의 고추가루를 가하는 단계; 및
  - 4) 숙성온도 15 내지 55℃, 숙성습도 40 내지 90%에서 25 내지 360일 동안 숙성시키는 단계
- 를 포함하는 특징으로 하는 방법.

**【청구항 14】**

제 11 항에 있어서,

- 1) 콩배아 코오지를 제조하는 단계;
- 2) 전분 함유 코오지를 제조하는 단계;

- 3) 장류의 총량을 기준으로 하여 5 내지 97 중량%의 콩배아 코오지 및 1 내지 95 중량%의 전분 함유 코오지를 혼합하는 단계;
  - 4) 효모 또는 젖산균을 장류의 총량을 기준으로 하여 0.01 내지 10 중량%의 양으로 접종하는 단계;
  - 5) 장류의 총량을 기준으로 하여 1 내지 40 중량%의 식염, 0 내지 40 중량%의 종수 및 0 내지 40 중량%의 고추가루를 가하는 단계; 및
  - 6) 숙성온도 15 내지 55℃, 숙성습도 40 내지 90%에서 25 내지 360일 동안 숙성시키는 단계
- 를 포함하는 특징으로 하는 방법.

#### 【청구항 15】

제 10 항, 제 13 항 또는 제 14 항에 있어서,  
 상기 효모가 사카로마이세스 록시(*Saccharomyces rouxii*), 토룰롭시스 다틸라(*Torulopsis dattila*), 토룰롭시스 에트벨시(*Torulopsis etcbellsii*), 토룰롭시스 베르사틸리스(*Torulopsis versatilis*) 또는 자이고사카로마이세스 록시(*Zygosaccharomyces rouxii*)인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 【청구항 16】

제 10 항, 제 13 항 또는 제 14 항에 있어서,  
 상기 젖산균이 페디오코커스 할필러스(*Pediococcus halphilus*), 페디오코커스 소자에(*Pediococcus sojae*) 또는 테트라코커스 소자에(*Tetracoccus sojae*)인 것을 특징으로 하는 방법.

**【청구항 17】**

제 7 항 또는 제 11 항에 있어서,

상기 장류가 된장 또는 고추장인 것을 특징으로 하는 방법.

**【청구항 18】**

제 7 항 또는 제 11 항의 방법에 의해 제조된, 이소플라본 및 어글리콘 형태의 이소플라본을 0.1 내지 3 중량% 함유하는 장류.

**【청구항 19】**

제 18 항에 있어서,

장류의 총량을 기준으로 하여 콩배아 5 내지 97 중량%, 전분 함유 곡물 1 내지 95 중량%, 식염 1 내지 40 중량%, 종수 0 내지 40 중량% 및 고추가루 0 내지 40 중량%를 함유하는 것을 특징으로 하는 장류.

**【청구항 20】**

제 18 항에 있어서,

상기 장류가 된장 또는 고추장인 것을 특징으로 하는 장류.